

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET**

Lucija Kudumija

**Uloga fibrinogena u kardiovaskularnim
bolestima**

DIPLOMSKI RAD



Zagreb, 2016.

Diplomski rad izrađen je u Kliničkom bolničkom centru „Sestre Milosrdnice“, Klinici za unutarnje bolesti, Zavodu za bolesti srca i krvnih žila pod mentorstvom doc.dr.sc. Mislava Vrsalovića, dr. med. i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2015/2016.

Popis i objašnjenje kratica korištenih u radu:

CD	<i>diferencijacijski antigen</i>
CRP	<i>C-reaktivni protein</i>
FGF	<i>faktor rasta fibroblasta</i>
HDL	<i>lipoprotein visoke gustoće</i>
hsCRP	<i>visoko senzitivni C-reaktivni protein</i>
ICAM	<i>međustanična adhezijska molekula</i>
IL	<i>interleukin</i>
LDL	<i>lipoprotein male gustoće</i>
NO	<i>dušikov oksid</i>
PDGF	<i>trombocitni faktor rasta</i>
TNF	<i>čimbenik nekroze tumora</i>
VCAM	<i>adhezijska molekula vaskularnih stanica</i>

SADRŽAJ

1. SAŽETAK

2. SUMMARY

3. UVOD	1
3.1. Kardiovaskularne bolesti	1
3.1.1. Epidemiologija	1
3.1.2. Podjela	1
3.2. ATEROSKLEROZA	2
4. UPALA I ATEROSKLEROZA	5
4.1. INICIJACIJA ATEROSKLEROZE	5
4.1.1. Nakupljanje i modifikacija LDL-a	5
4.1.2. Upalne stanice	5
4.2. IMUNOLOŠKE INTERAKCIJE UNUTAR POČETNE ATEROSKLEOTISKE LEZIJE	6
4.2.1. Antigeni i imunološka aktivacija	6
4.2.2. Citokini	7
4.3. RAZVOJ ATEROSKLEROTIČNOG PLAKA	7
4.4. DESTABILIZACIJA PLAKA	8
5. FIBRINOGEN	9
5.1. FIBRINOGEN I UPALA	9
5.2. FIBRINOGEN I ATEROGENEZA	10
5.3. FIBRINOGEN I TROMBOGENEZA	10
5.4. METODE ODREĐIVANJA KONCENTRACIJE FIBRINOGENA U PLAZMI	12
5.5. ODREDNICE RAZINE FIBRINOGENA U PLAZMI	12
5.5.1. Genska regulacija	12
5.5.2. Spol	13
5.5.3. Dob	13
5.5.4. Indeks tjelesne mase i tjelesna konstitucija	13
5.5.5. Tjelesna aktivnost	14
5.5.6. Sezonske razlike	15
5.5.7. Pušenje	15
5.5.8. Alkohol	16

6. FIBRINOGEN U KARDIOVASKULARNIM BOLESTIMA	17
6.1. KLINIČKA IMPLIKACIJA FIBRINOGENA	18
6.2. FIBRINOGEN U KORONARNOJ BOLESTI SRCA	19
6.3. FIBRINOGEN U PERIFERNOJ ARTERIJSKOJ BOLESTI.....	22
6.3.1. Genska regulacija fibrinogena i utjecaj na razvoj periferne arterijske bolesti	24
6.4. FIBRINOGEN U CEREBROVASKULARNOJ BOLESTI	25
7. ZAKLJUČAK.....	27
8. ZAHVALE.....	28
9. LITERATURA.....	29
10. ŽIVOTOPIS	36

1.SAŽETAK

Povišena razina fibrinogena u plazmi povezana je s povećanim rizikom za razvoj kardiovaskularnih bolesti, uključujući ishemijsku bolest srca, moždani udar i okluzivnu bolest perifernih arterija. Fibrinogen ima važnu ulogu u brojnim patofiziološkim procesima u tijelu, uključujući upalu, aterosklozu i trombogenezu. Nekoliko je mehanizama kojima fibrinogen povećava kardiovaskularni rizik. Predloženi mehanizmi uključuju infiltraciju stijenke krvne žile fibrinogenom, promjenu reoloških svojstava krvi, u smislu povećane viskoznosti, povećanu agregaciju trombocita i stvaranje tromba. Nadalje, koncentracija fibrinogena u plazmi povezana je s gotovo svim ostalim kardiovaskularnim čimbenicima rizika, kao što su pušenje, dob, pretilost, hipertenzija i šećerna bolest, a moguće je da predstavlja jedan od zajedničkih mehanizama kojima ti čimbenici rizika pridonose razvoju kardiovaskularnih događaja. Fibrinogen je i jedan od proteina akutne faze. Upalno stanje, infekcije dovode do povišene koncentracije fibrinogena u plazmi te time, također, mogu pridonijeti ukupnom kardiovaskularnom riziku. Razina fibrinogena u plazmi, pod utjecajem je brojnih čimbenika; povećava se s dobi, indeksom tjelesne mase, pušenjem, dijabetesom te nakon menopauze, a smanjuje se umjerenim unosom alkohola, tjelesnom aktivnosti, porastom koncentracije lipoproteina visoke gustoće (HDL) te uz hormonsku nadomjesnu terapiju. Prema nekim istraživanjima, koncentracija fibrinogena je prediktor povišenog rizika za razvoj velikog kardiovaskularnog događaja, jednako kao koncentracija kolesterola, dijastolički krvni tlak i indeks tjelesne mase. Dakle, povišena razina fibrinogena u plazmi ima značajne prognostičke implikacije, fibrinogen je snažan prediktor ishemijske bolesti srca, fatalnog i ne-fatalnog infarkta miokarda te smrti nepoznatog razloga, podjednako za muškarce i žene. Razina fibrinogena u plazmi potencijalno se može koristiti u programu probira za prepoznavanje osoba s visokim rizikom za nastanak kardiovaskularnih događaja. Ohrabruje činjenica da je razina fibrinogena, djelomično, promjenjivi faktor rizika, a pozitivne promjene načina života obično rezultiraju smanjenjem razine fibrinogena.

Ključne riječi: fibrinogen, ateroskleroza, upala, kardiovaskularne bolesti

2. SUMMARY

Elevated plasma fibrinogen levels are associated with an increased risk of all the major atherosclerotic cardiovascular events, including coronary heart disease, stroke and peripheral artery disease. Fibrinogen plays a vital role in a number of physiopathological processes in the body, including inflammation, atherogenesis and thrombogenesis. There are several mechanisms by which fibrinogen may increase cardiovascular risk. Proposed mechanisms include the infiltration of the vessel wall by fibrinogen, hemorrheological effects due to increase in blood viscosity, increased platelet aggregation and thrombus formation. Furthermore, plasma fibrinogen concentration is positively correlated with nearly all other cardiovascular risk factors, such as smoking, age, obesity, hypertension and diabetes and may be a common mechanism by which these risk factors predispose to cardiovascular events. Fibrinogen is also a prominent acute-phase reactant. Thus, elevated concentrations of fibrinogen, secondary to inflammation or infection, implicated in cardiovascular risk may operate, in part, by increasing the reactivity of platelets. Plasma fibrinogen is also influenced by many factors: it increases with age, body mass index, smoking, diabetes and post menopause but it decreases with moderate alcohol intake, physical activity, increased high-density-lipoprotein cholesterol, and with hormone replacement therapy. It appears that fibrinogen concentration and plasma viscosity are at least as predictive of cardiovascular events as are cholesterol concentration, diastolic blood pressure and body mass index. Furthermore, raised plasma fibrinogen levels have prognostic implications, being a strong predictor of coronary heart disease, fatal or non-fatal, and of death from an unspecified cause, for both men and women. Plasma fibrinogen levels could potentially be considered for screening programs to identify people at high risk of vascular events. Encouragingly, plasma fibrinogen is partly modifiable risk factor and suitable lifestyle changes usually result in favorable decreases in plasma fibrinogen levels..

Key words: fibrinogen, atherosclerosis, inflammation, cardiovascular disease

3.UVOD

3.1.Kardiovaskularne bolesti

3.1.1. Epidemiologija

Prema podacima Svjetske zdravstvene organizacije, kardiovaskularne bolesti su vodeći uzrok smrti u svijetu, od kojih godišnje umire 17,3 milijuna ljudi, odnosno 30% sveukupne smrtnosti, od toga, 7,3 milijuna smrti od ishemijske bolesti srca, a 6,2 milijuna od cerebrovaskularnih bolesti. Više od 3 milijuna tih smrti bilo je u dobi do 60 godina. Udio prijevremenih smrti od srčano žilnih bolesti varira od 4% u visoko dohodovnim zemljama do 42% u nisko dohodovnim zemljama.

Bolesti srca i krvnih žila glavni su uzrok smrti i bolničkog liječenja i u Hrvatskoj. Od njih umire skoro svaki drugi stanovnik naše zemlje. Uzrok su smrti u 54,5% umrlih žena i 42,1% umrlih muškaraca, a udio u ukupnoj smrtnosti iznosi 48,3%. (Kralj V 2014 Dostupno na: <http://javno-zdravlje.hr/kardiovaskularne-bolesti-2/>)

3.1.2. Podjela

Prema X. reviziji Međunarodne klasifikacije bolesti, povreda i uzroka smrti u tu skupinu pripadaju:

- akutna reumatska groznica (I00-I02)
- kronične reumatske srčane bolesti (I05-I09)
- hipertenzivne bolesti (I10-I15)
- ishemična (koronarna) bolesti srca (I20-I25)
- plućna bolest srca i bolesti plućne cirkulacije (I26-I28)
- ostali oblici srčane bolesti (I30-I52)
- cerebrovaskularne bolesti (I60-I69)
- bolesti arterija, arteriola i kapilara (I70-I79)
- bolesti vena, limfnih žila i limfnih čvorova, nesvrstane drugamo (I80-I89)

- ostale i nespecificirane bolesti cirkulacijskog sustava (I95-I99)

Glavne kliničke manifestacije kardiovaskularnih bolesti mogu se podijeliti na one koje zahvaćaju:

- srce i srčani krvožilni sustav– koronarna (ishemijska) bolest
- mozak i moždani krvožilni sustav – cerebrovaskularna bolest
- donje udove – okluzivna bolest perifernih arterija.

Upravo će prema prethodno navedenoj podjeli, u daljnjem tekstu, biti prikazana uloga fibrinogena u kardiovaskularnim bolestima.

3.2. ATEROSKLEROZA

3.2.1. Definicija ateroskleroze

Ateroskleroza je najčešći uzrok smrti i pobola u zapadnom svijetu. To je bolest elastičnih arterija (tj. aorte, karotide, i zdjelice arterije) i velikih i srednje-velikih mišićnih arterija (tj. koronarne i poplitealne arterije), dok su manje arterije rijetko pogođene. Ateroskleroza je kronična fibroproliferativna i imunoinflamatorna bolest s postupnim razvojem plaka i akutnim kardiovaskularnim i cerebrovaskularnim komplikacijama. Akutne manifestacije ateroskleroze uzrokovane su okluzijom arterije trombom na ranije postojećem, često hemodinamski neznčajnom, ali aktivnom, rupturiranom ili erodiranom plaku. Ruptura plaka obično nastaje na mjestu gdje je fibrozna kapa tanka i djelomično uništena u čemu ključnu ulogu imaju upalne stanice koje proizvode upalne molekule i proteolitičke enzime koje slabe kapu i dovode do njene rupturiranja s posljedičnim izlaganjem protrombotskog materijala iz srži plaka (fosfolipidi, tkivni faktor) i aktivacijom kolagulacijske kaskade. (Hansson GK, Nilsson J 2009) Koncept vulnerabilnog plaka u središtu je interesa kao ključno mjesto istraživanja novih preventivnih, dijagnostičkih i terapijskih metoda kojim je cilj prevencija nastanka takvih plakova, te ako se pojave njihovo pravovremeno uočavanje i učinkovito rješavanje.

3.2.2. Čimbenici rizika

Ateroskleroza je multifaktorska bolest koja ima brojne rizične čimbenike, neke konstitucijske, nepromjenjive, a druge okolišne, promjenjive. Konstitucijski čimbenici ne mogu se promijeniti, a u njih se svrstavaju; dob, spol i naslijeđe, a za razliku od navedenih, postoje i brojni promjenjivi okolišni čimbenici, koji se mogu kontrolirati ili modificirati. Među okolišnim čimbenicima najznačajniji su; hiperlipidemija, hipertenzija, pušenje cigareta i šećerna bolest. Osim navedenih, dobro utvrđenih, tradicionalnih čimbenika rizika postoje i nešto noviji biomarkeri rizika kao posljedica upalne komponente ateroskleroze, poput; hs-CRPa, fibrinogena, lipoproteina(a), homocisteina, lipoprotein vezane fosfolipaze A2. (Waters D.D. 2009) Ipak, unatoč dobrom poznavanju rizičnih i zaštitnih čimbenika, ne može se na temelju danas poznatih tablica rizika sa sigurnošću predvidjeti brzina razvoja ateroskleroze i klinički tijek. Poznavanje individualne sklonosti aterosklerozi u prisustvu aterogenog čimbenika još je uvijek ograničeno.

Tablica 1. Rizični čimbenici za nastanak ateroskleroze

Nepromjenjivi čimbenici rizika
Dob Spol Obiteljska anamneza
Promjenjivi čimbenici rizika
Hipertenzija Visoki LDL-kolesterol Niski HDL-kolesterol Hipertrigliceridemija Pušenje cigareta Netolerancija glukoze i dijabetes Pretilost Fizička neaktivnost Kokain Depresija
Noviji plazmatski biomarkeri
fibrinogen lipoprotein (a) hsCRP serum amiloid interleukin-6, interleukin -18 homocistein mijeloperoksidaza

4. UPALA I ATEROSKLEROZA

Upala je skupni tkivni odgovor na upalotvornu noksu, a uključena je u nekoliko faza razvoja kardiovaskularne bolesti te je prepoznata kao glavni element u inicijaciji, destabilizaciji i rupturi aterosklerotskog plaka. (Hansson GK 2005.) Brojna istraživanja aterosklerotskih lezija identificirala su brojne molekule i upalne stanice koje sudjeluju u procesu bolesti. Razvoj genetski modificiranih mišjih modela i uporaba genske „knockout“ tehnologije omogućili su nova saznanja o važnosti specifičnih faktora, poput faktora rasta i adhezijskih molekula, u formiranju i napredovanju aterosklerotskih lezija. (Hansson GK et Nilsson J 2009)

4.1. INICIJACIJA ATEROSKLEROZE

4.1.1. Nakupljanje i modifikacija LDL-a

Prve uočljive promjene kod eksperimentalnih životinja podvrgnutih proaterogenim čimbenicima rizika, kao što je hiperkolesterolemija, su pojava lipida u intimi i izražavanje adhezijskih molekula na površini endotela koje su receptori za leukocyte. Kako razina LDL-a u plazmi raste, sve više LDL-a prolazi kroz endotel u intimu. Ovaj proces izraženiji je na mjestima povećane propusnosti endotela, a koja je najveća na mjestima grananja arterija. (Libby P et al. 2002)

U intimi dolazi do oksidacije LDL-a koja nastaje djelovanjem kisikovih radikala podrijetlom iz makrofaga. Međutim, nejasno je zašto antioksidanti koji štite LDL od oksidacije u krvi ne mogu spriječiti proces oksidacije u intimi. (Hansson GK et Nilsson J 2009)

4.1.2. Upalne stanice

Oksidacija LDL-a dovodi do otpuštanja modificiranih lipida kao što je lizofosfatidilkolin. Neki od tih lipida djeluju kao signalne molekule koje aktiviraju stanice endotela i glatke mišićne stanice. To dovodi do ekspresije adhezijske molekule (VCAM-1), koja je receptor za monocite i T limfocite. VCAM-1 dovodi do vezanja monocita i T-limfocita za površinu endotela na mjestima akumulacije i oksidacije lipida. Kemokine (

kemotaktičke citokine) izlučuju makrofagi, stanice endotela i glatke mišićne stanice, a izlučivanje je inducirano akumulacijom i oksidacijom lipida, iako točni mehanizmi nisu potpuno razjašnjeni. Nakupine oksidiranog kolesterola također induciraju aktivaciju komplementa, što također stvara kemotaktički signal. Oba mehanizma potiču migraciju mononuklearnih stanica s površine endotela u intimu. (Cybulsky MI et al. 2001)

Monociti u intimi diferenciraju u makrofage, a to je inducirano s M-CSF (eng. macrophage-colony stimulating factor), koji proizvodi aktivirani endotel. Uočeno je da M-CSF-deficijentni miševi ne razvijaju aterosklerozu, čak i ako su izloženi hiperkolesterolemiji. (Qiao JH et al. 1997)

Brown i Goldstein, nagrađeni Nobelovom nagradom za otkriće lipoproteinskih receptora i metabolizam kolesterola, primijetili su da makrofagi fagocitiraju značajne količine oksidiranog LDL-a, za razliku od neoksidiranog, preko spasilačkih (eng. scavenger) receptora. Monociti se tada diferenciraju u pjenaste stanice, prototipne stanice ateroskleroze, a nakupine takvih stanica zajedno s T-limfocitima i ekstracelularnim kolesterolom (uglavnom lipoproteini) ispod očuvanog endotela tvore početnu aterosklerotsku leziju, masnu prugu. (Mach F et al. 1999)

4.2. IMUNOLOŠKE INTERAKCIJE UNUTAR POČETNE ATEROSKLEORTSKE LEZIJE

4.2.1. Antigeni i imunološka aktivacija

T-stanice kao i makrofagi, ulaze u intimu arterije nakon vezanja za aktivirani endotel. T-limfociti se unutar plaka aktiviraju uz prisustvo odgovarajućeg antigena, a za to su potrebne antigen-prezentirajuće stanice, makrofagi, koji antigen prezentiraju vezan na MHC- II klase molekule (u ljudi, HLA-DR, DQ i DS). Takve antigen-MHC komplekse prepoznaju CD4⁺T stanice, koje su dominantni tip T-limfocita u masnoj prugi. Prepoznavanje antigena dovodi do aktivacije T-limfocita, što preko unutarstaničnih signala dovodi do proizvodnje autokrinih čimbenika rasta, lučenja citokina, te u nekim slučajevima, razvoja citotoksičnih svojstava. (Libby P et al. 2002)

Kloniranje T stanica iz ljudskih plakova otkrilo je da značajan dio njih prepoznaje komponente oksidiranog LDL-a. Protutijela na oksidirani LDL prisutna su u visokom

titru kod pacijenata s aterosklerozom, kao i u eksperimentalnim modelima bolesti. Međutim, ostaje nejasno može li veličina titra protutijela na oksidirani LDL upućivati na daljnji tijek bolesti. (Hansson GK et Nilsson J 2009)

4.2.2. Citokini

Aktivirani T-limfociti izlučuju proupalne citokine koji aktiviraju makrofage, endotelne stanice i stanice glatkih mišića, ali i citokine koji suprimiraju upalu. Najvažniji citokin Th1 limfocita je interferon- γ koji stimulira endotelne stanice da eksprimiraju adhezijske molekule, potiče prokoagulantnu aktivnost, inhibira stanice glatkih mišića u proizvodnji aktina i kolagena te potiče aktivaciju makrofaga. Interferon- γ djeluje na makrofage tako da stimulira lučenje upalnih citokine poput faktora tumorske nekroze (TNF- α) i interleukina -1, potiče oslobađanje proteolitičkih enzima i proizvodnju velike količine kisikovih i dušikovih radikala. TNF- α zatim inhibira lipolitičke enzime, inducira prokoagulantnu aktivnost. (Libby P et al. 2002) Sve navedeno djeluje proaterogeno, a čini se da interferon- γ sudjeluje u posebnom obliku arterioskleroze koja nastaje u transplantiranima organima.

Kod nekoliko životinjskih modela imunizacija oksidiranim LDL-om sprječava razvoj ateroskleroze, a slično je pokazao i prijenos B-limfocita iz miševa s aterosklerozom u miševe bez bolesti te su na taj način bili zaštićeni od kardiovaskularnih bolesti. Prethodno navedeni ishodi istraživanja na životinjskim modelima mogli bi se objasniti stvaranjem protektivnih protutijela ili protuupalnih, odnosno vaskuloprotektivnih citokina. (Hansson GK et Nilsson J 2009)

4.3. RAZVOJ ATEROSKLERTOSKOG PLAKA

Masna pruga nije klinički značajna, a mnoge spontano nestanu. Međutim, karakteristično na mjestima račvišta krvnih žila (turbulencija krvi) masna pruga progredira u aterosklerotski plak. Glatke mišićne stanice migriraju u subendotelni prostor gdje se umnožavaju i sintetiziraju izvanstanični matriks što rezultira fibroznom kapom koja razdvaja lipidnu jezgru plaka od površine endotela.

Faktor rasta fibroblasta (FGF) i trombocitni faktor rasta (PDGF) induciraju proliferaciju arterijskih glatkih mišićnih stanica, a PDGF djeluje i kemotaktički za glatke mišićne

stanice. FGF je pohranjen u arterijskom izvanstaničnom matriksu i otpušta se ukoliko dođe do ozljede arterijske stijenke, a izvor PDGF-a su trombociti i makrofagi . (Ross R 1999)

4.4. DESTABILIZACIJA PLAKA

Upalno zbivanje u plaku potaknuto citokinima i različitim patogenima aktivira makrofage koji izlučuju metaloproteinaze matriksa te nastupa razgradnja kolagena fibrozne kape. Proupalni citokini (posebno, interferon- γ i TNF- α) prisutni u području upale sprječavaju obnovu kolagenih vlakana, inhibirajući ekspresiju odgovarajućih gena, a također inhibiraju proliferaciju glatkih mišićnih stanica , što eliminira mehanizme za popravak fibrozne kape. Citotoksični kisikovi i dušikovi radikali podrijetlom iz makrofaga doprinose procesu uzrokujući apoptozu stanica. Svi navedeni događaji pridonose smanjenju čvrstoće fibrozne kape te plak biva podložan rupturi. (Fabunmi RP et al. 1997)

Kada dođe do rupture fibrozne kape sadržaj plaka se izlaže cirkulirajućoj krvi te se trombociti odmah aktiviraju i lokaliziraju na mjestu rupture. Receptori koji posreduju vezanje trombocita za tkivo su glikoprotein IIb / IIIa i glikoprotein Ib. Glikoprotein IIb/IIIa veže fibrinogen koji međusobno povezuje trombocite, a glikoprotein Ib veže von Willebrandov faktor. Adenozin difosfat i drugi faktori, koje proizvode adheirarni trombociti, aktiviraju ostale trombocite, a dolazi i do aktivacije koagulacijske kaskade. Koagulacijski odgovor pokreće se kada je tromboplastin, odnosno tkivni faktor izražen na površini makrofaga, endotelnih stanica i stanica glatkih mišića. Prema tome, upala i imunološki odgovor potiču trombozu na dva načina : uzrokujući rupturu plaka te inducirajući ekspresiju tkivnog faktora. (Davies MJ 2000)

5.FIBRINOGEN

Fibrinogen je glikoprotein veličine 350kDa, a prvi put je izoliran iz konjske plazme 1876. godine. Molekula fibrinogena sastoji se od tri para različitih polipeptidnih lanaca (alfa, beta i gama lanci) međusobno povezanih disulfidnim vezama. Sintetizira se u jetri, reaktant je akutne faze i ključan faktor koagulacije kao prekursor fibrina. U općoj populaciji koncentracija fibrinogena u plazmi varira od 1,5 do 3,5 g/l, što daleko nadmašuje minimalnu koncentraciju od 0,5-1 g/l koja je potrebna za hemostazu. Vrijeme poluživota fibrinogena iznosi od 3 do 4 dana (Doolittle RF et al. 1998, Herrick S et al. 1999).

Fibrinogen igra ključnu ulogu u brojnim patofiziološkim procesima u tijelu, uključujući upalu, aterogenezu i trombogenezu. Predloženi mehanizmi aterotrombogenezе su; infiltracija stijenke krvnih žila fibrinogenom, promjena reoloških svojstava krvi u smislu povećanja viskoznosti, povećana aktivacija trombocita te formiranje tromba. (Schneider DJ et al. 1999)

5.1. FIBRINOGEN I UPALA

Dva glavna receptora za fibrinogen na površini leukocita su MAC-1 (CD11b/CD18,) i $\alpha X\beta 2$ receptor (CD11c/CD18). Sposobnost MAC-1 receptora za vezanje fibrinogena rezultat je promjena koje se događaju tokom diferencijacije i aktivacije stanica, jer svojstvo vezanja fibrinogena nemaju mirujući leukociti. Fibrinogen je i ligand za adhezijske molekule ICAM-1. Vezujući se za MAC-1 na monocitima te istovremeno za ICAM-1 na endotelnim stanicama, fibrinogen poboljšava interakciju monociti-endotelne stanice. Nadalje, fibrinogen stimulira ekspresiju ICAM-1 molekula na površini endotelnih stanica, što rezultira povećanom adhezijom leukocita. Štoviše, vezanje fibrinogena za ICAM-1 receptor na endotelnim stanicama posreduje i adheziju trombocita. Interakcija fibrinogena i stanica koje ekspimiraju ICAM-1 povezana je i sa staničnom proliferacijom. (Harley SL et al. 2000 , Gardiner EE 1997)

Fibrinogen vezanjem za integrin na površini leukocita inducira i kemotaktički odgovor, još jedna ključna uloga fibrinogena u upalnom procesu. Jedan od predloženih mehanizama kojima fibrinogen inducira proupalne promjene u leukocitima je

povećanje intracelularnog kalcija i povećana sinteza citokina koji aktiviraju neutrofile. (Rubel C et al. 2002)

Istraživanja upućuju da fibrinogen potiče i upalni odgovor organizma na biomaterijale. Interakcija s biomaterijalima rezultira konformacijskim promjenama molekule fibrinogena što dovodi do pojačanog vezanja fibrinogena za MAC-1 receptore na makrofagima. (Hu WJ et al. 2001)

Kako je prethodno objašnjeno, fibrinogen je važan posrednik interakcije stanica te ima važnu ulogu u procesima adhezije kao i u upalnom odgovoru u cjelini.

5.2. FIBRINOGEN I ATEROGENEZA

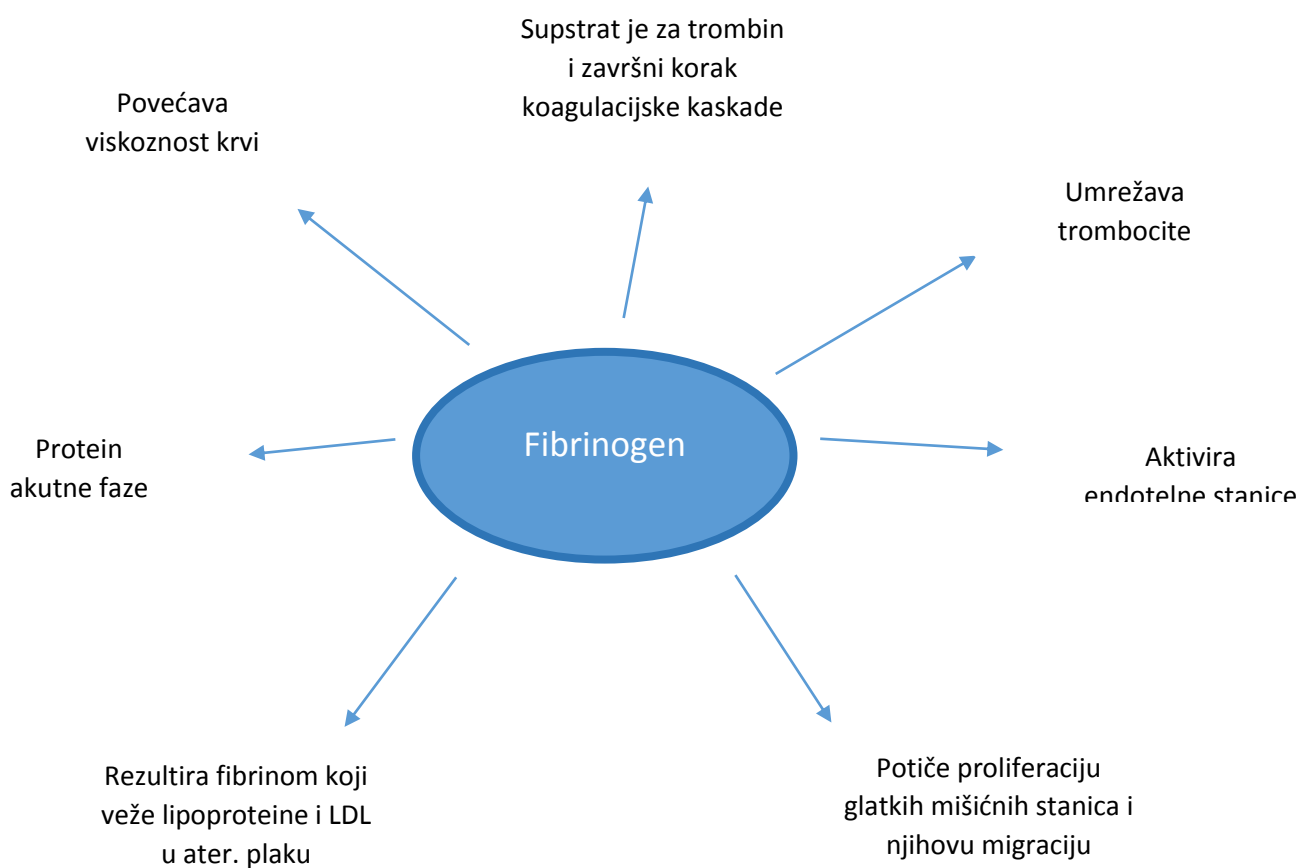
Fibrinogen i njegovi metaboliti dovode do disfunkcije endotela brojnim mehanizmima. Mnoge aterosklerotske lezije sadrže velike količine fibrina, koji se nalazi ili u slojevima unutar fibrozne kape, u lipidima bogatoj srži ili difuzno raspoređen po čitavom plaku. Ovu pojavu moguće je između ostalog objasniti i smanjenom fibrinolizom u intimi arterija kao i smanjenom koncentracijom plazminogena, što je čest nalaz kod pacijenata s kardiovaskularnim bolestima. (Kamath S et Lip GYH 2003)

Fibrin unutar intime stimulira proliferaciju stanica osiguravajući potpurnu strukturu duž koje stanice migriraju, te vezanjem fibronektina potiče migraciju i adheziju stanica. Razgradni produkti fibrina, koji su prisutni u intimi, također potiču sintezu kolagena, privlače leukocyte, mijenjaju propusnost endotela te vaskularni promjer. U uznapređovalom plaku i sam fibrin može sudjelovati u vezanju LDL-a i nakupljanju lipida, što dovodi do stvaranja lipidne jezgre. (Naito M et al. 1992)

5.3. FIBRINOGEN I TROMBOGENEZA

Trombogeneza je regulirana ravnotežom između koagulacije i fibrinolize. Nakon traume stijenke krvne žile, oslobađa se tkivni tromboplastin. Tkivni tromboplastin aktivira vanjski put zgrušavanja krvi aktiviranjem faktora VII. Kontakt krvi sa stranim materijalom inducira unutrašnji put zgrušavanja, aktivirajući faktor XII, a aktiviraju se i trombociti. Konačni zajednički put koagulacijske kaskade uključuje aktivaciju faktora X u Xa i na taj način aktivacije protrombina u trombin. Trombin kao proteaza cijepa

fibrinogen u monomere fibrina. Aktivirani faktor XIII olakšava križno povezivanje polimera fibrina u stabilni fibrinski ugrušak. Fibrinogen je također uključen i u agregaciju trombocita. Fibrinogen se veže za glikoprotein IIb/IIIa , receptor na površini trombocita, te ih time međusobno povezuje. (Cahill M et al. 1992)



Slika 1. Fibrinogen - aterogeneza i trombogeneza

5.4. METODE ODREĐIVANJA KONCENTRACIJE FIBRINOGENA U PLAZMI

Dostupne metode određivanja fibrinogena mogu se svrstati u dvije skupine; funkcionalne i direktne. Prva kategorija uključuje testove koji se temelje na određivanju vremena zgrušavanja krvi, a koje je proporcionalno koncentraciji fibrinogena. Najčešće korištena funkcionalna metoda u većini kliničkih laboratorija je Clauss metoda, koja bilježi vrijeme potrebno za formiranje ugruška. Druga skupina testova izravno kvantificira molekule fibrinogena, bilo imunološki, bilo metodom gravimetrije ili taloženjem. Potonji testovi ne daju informacije o funkcionalnoj sposobnosti fibrinogena. (Kamath S et Lip GYH 2003)

5.5. ODREDNICE RAZINE FIBRINOGENA U PLAZMI

Razina fibrinogena u plazmi ovisi i o genetskim i o okolišnim čimbenicima.

5.5.1. Genska regulacija

Rezultati istraživanja upućuju na to da je razina fibrinogena u plazmi pod značajnom genetskom kontrolom. Genetski polimorfizmi odgovorni su za 20-51% varijacija razine fibrinogena u plazmi. Takva značajna genetska kontrola razine fibrinogena u plazmi podupire stav da je fibrinogen primarni faktor rizika za aterotrombotske poremećaje, a ne samo odraz takvog poremećaja. Genetski utjecaj na beta lanac fibrinogena je najviše istraživani zbog toga što je sinteza beta lanca ograničavajući korak u proizvodnji zrelog fibrinogena. Van't Hooft et al. pokazali su da -455G/A i 854G/A polimorfizmi gena beta lanca fibrinogena imaju značajan utjecaj na koncentraciju fibrinogena u plazmi. 455G/A mutacija u promotorskoj regiji gena beta lanca fibrinogena je jedna od najčešćih genetskih varijacija i vjerojatno je povezana s povećanjem razine fibrinogena u plazmi u oba spola. Zanimljivo je da je u bolesnika sa šećernom bolesti tipa 2 uočena jaka povezanost između -455G polimorfizma β lanca fibrinogena i razvoja koronarne bolesti. (Fellowes AP et al. 2001)

Unatoč spoznaji da je razina fibrinogena u plazmi pod značajnim stupnjem genetske kontrole, točno određeni aleli, polimorfizmi koji su odgovorni za razlike u razinama između različitih populacija, i klinički značaj istih, ako ih ima, i dalje ostaje nepotpuno

ispitan s mnogo ograničenih podataka koji su proturječni. (Fish RJ et Neerman-Arbez M 2012)

5.5.2. Spol

Epidemiološka studija MONICA utvrdila je da su vrijednosti fibrinogena u plazmi konstantno više u žena nego u muškaraca unutar svih dobni skupina, bez obzira na trudnoću ili korištenje oralne kontracepcije. Razina fibrinogena veća je u žena čak i nakon što se uzmu u obzir čimbenici zabune. Nadalje, ovakav uzorak primijećen je i u zdravih adolescenata. (Prisco D et al. 1996) Međutim, neke studije nisu uspjele dokazati značajnu razliku u vrijednostima fibrinogena u plazmi između muškaraca i žena. (Kamath S et Lip GYH 2003) Također, treba napomenuti da je od svih prospektivnih epidemioloških studija samo studija iz Framinghama uključila i žene; dakle utjecaj fibrinogena na kardiovaskularni rizik u žena ostaje nepotpuno ispitan.

5.5.3. Dob

Koncentracije fibrinogena u plazmi općenito se povećavaju s godinama. Ovo s godinama povezano povećanje fibrinogena u plazmi vjerojatno je posljedica sporije razgradnje, a ne povećane sinteze fibrinogena. (Ishikawa S et al. 1997, Kamath S et Lip GYH 2003)

5.5.4. Indeks tjelesne mase i tjelesna konstitucija

Koncentracija fibrinogena u plazmi pozitivno je povezana s indeksom tjelesne mase, opsegom struka, opsegom bokova i omjerom struk-bokovi u oba spola. Razina fibrinogena u plazmi znatno je veća kod pacijenata s indeksom tjelesne mase većim od 30 kg/m², u usporedbi s onima s indeksom manjim od 25 kg/m². Ditschuneit et al. pokazali su da je u ispitanika s iznimno velikom tjelesnom masom te visokom koncentracijom fibrinogena, smanjenje mase u pozitivnoj korelaciji sa smanjenjem razine fibrinogena u plazmi. (Ditschuneit HH et al. 1995) Kirurško liječenje morbidne pretilosti može rezultirati dugoročnim smanjenjem rizika za kardiovaskularne i

tromboembolijske događaje, što je pokazano smanjenjem protrombotičkih čimbenika, uključujući fibrinogen. (Carroll S et al. 2000)

5.5.5. Tjelesna aktivnost

5.5.5.1. Akutna tjelovježba

Promjene u razini fibrinogena u plazmi uočene su nakon akutnog vježbanja. Međutim, rezultati različitih studija su proturječni zbog razlike u ispitivanim populacijama, protokolu vježbi te u analitičkim metodama koje se koriste za procjenu razine fibrinogena. Akutna tjelovježba može uzrokovati porast razine fibrinogena u bolesnika s kardiovaskularnim bolestima. Primjerice, u bolesnika s kroničnom fibrilacijom atrijske nakon napore tjelovježbe razina fibrinogena značajno je porasla u roku od 20 minuta uz istovremene promjene fibrinolitičke aktivnosti. U drugoj studiji, u bolesnika s kroničnim zatajenjem srca vježbanje do iznemoglosti značajno je povećalo razinu fibrinogena u roku od 20 minuta. (Gibbs CR et al. 2001) Ova zapažanja mogu pridonijeti povećanom riziku za tromboembolički događaj. (Li-Saw-Hee FL et al. 2001)

5.5.5.2. Redovita tjelovježba

Redovita tjelovježba tokom nekoliko tjedana ili mjeseci dovodi do smanjenja razine fibrinogena u plazmi kako u zdravih tako i u bolesnih pojedinaca. U zdravih osoba, napore vježbe u periodu od 4 tjedna snižavaju razinu fibrinogena u plazmi te za 15% snižavaju rizik za razvoj koronarne bolesti srca. U jednoj studiji program vježbi u trajanju od 12 tjedana u bolesnika s blagom hipertenzijom rezultirao je značajnim smanjenjem fibrinogena u plazmi i smanjenjem ukupnog rizika za razvoj koronarne bolesti. (Connelly JB et al. 1992) Redovita tjelovježba također je korisna u smanjenju rizika za razvoj koronarne bolesti u inače zdravih osoba, smanjenjem krvnog tlaka i razine fibrinogena u plazmi. Ipak, fibrinogen se vraća na početne vrijednosti nakon prestanka tjelesne aktivnosti i vraćanja sjedilačkom načinu života. Dakle, rezultati istraživanja ukazuju na to da redovita tjelovježba tijekom duljeg vremenskog perioda ima koristan učinak u smislu smanjenja rizika za razvoj kardiovaskularnih događaja, a

kao mogući mehanizam pretpostavlja se smanjenje razine fibrinogena u plazmi.(Schuit AJ, et al. 1997,)

5.5.6. Sezonske razlike

Kardiovaskularni poremećaji, cerebrovaskularni poremećaji, povezani čimbenici rizika i smrtnost pokazuju sezonske varijacije, s vrhuncem u zimskom periodu pogotovo među starijim osobama. Sukladno tome, razina fibrinogen u plazmi pokazuje sezonsku varijaciju, s vrhuncem zimi, kako u zdravih odraslih osoba tako i kod pacijenata s kardiovaskularnim bolestima. (Kamath S et Lip GYH 2003)

5.5.7. Pušenje

Raspoloživi podatci ukazuju da je pušenje cigareta snažno povezano s povećanom razinom fibrinogena u plazmi, čime se djelomično objašnjava štetni učinak pušenja na kardiovaskularni sustav. Svaka popušena cigareta dnevno povećava srednju razinu fibrinogena za 0,35 g / l. (de Maat MP 1996) U Framingham-ovoj studiji, vrijednosti fibrinogena bile su znatno veće u pušača nego u nepušača u oba spola; bivši pušači imali su niske vrijednosti kao i one u nepušača. Pasivno pušenje također povećava rizik od koronarne bolesti srca djelomično povećanjem koncentracije fibrinogena u plazmi. Kako pušenje mijenja razinu fibrinogena? Pušenje rezultira upalnom reakcijom bronha, bronhiola, alveola kao i krvnih žila, što je dokazano i povećanjem razine C-reaktivnog proteina.(Mendall MA et al. 1996) Rezultirajuća upalna reakcija povećava proizvodnju citokina, kao što je interleukin-6 koji ima glavnu ulogu u regulaciji sinteze proteina akutne faze u jetri, uključujući fibrinogena. (McCarty MF 1999) Time povećana razina fibrinogena u pušača potiče kroničnu upalu u stjenkama krvnih žila, te može djelovati kao posrednik povećanog rizika za koronarnu bolest u pušača. Pušenje dovodi do disfunkcije endotela i povećava rizik za trombozu, barem djelomično, povećanjem koncentracije fibrinogena u plazmi koji stimulira aktivaciju trombocita. (Kamath S et Lip GYH 2003)

5.5.8. Alkohol

Umjereno konzumiranje alkohola čini se snižava koncentraciju fibrinogena u plazmi. Takozvani 'Francuski paradoks' može se barem djelomično objasniti utjecajem alkohola na faktore zgrušavanja. Primjerice, u DERSIR studiji (Data from an Epidemiological Study on the Insulin Resistance syndrome) na 4967 muškaraca i žena u dobi od 30-64 godina, potvrđena je povezanost konzumacije alkohola i razine fibrinogena; veće koncentracije nađene su u onih koji ne konzumiraju alkohol i u onih koji konzumiraju više od 60 g/dan .(Mennen LI et al. 1999) Mehanizmi kojima alkohol utječe na razinu fibrinogena nisu razjašnjeni .Pokusi na životinjama pokazali su da alkohol djeluje na razini genske ekspresije fibrinogena u stanicama jetre . S druge strane konzumacija alkohola potiče razvoj visokog krvnog tlaka i fibrilacije atrija ,stanja povezanih s visokom razinom fibrinogena u plazmi. (Wang Z et al. 1999, Kamath S et Lip GYH 2003)

Tablica 2. Čimbenici koji utječu na razinu fibrinogena

Čimbenici povezani s povišenom razinom fibrinogena u plazmi	Čimbenici povezani sa sniženom razinom fibrinogena u plazmi
Starija dob	Mlađa dob
Ženski spol	Muški spol
Crna rasa	Prestanak pušenja
Pušenje	Gubitak tjelesne mase
Pretilost	Redovita tjeleovježba
Fizička neaktivnost	Umjerena konzumacija alkohola
Povišeni kolesterol	Hormonska nadomjesna terapija
Menopauza	
Oralna kontracepcija	
Niži socio-ekonomski status	
Stres	

6. FIBRINOGEN U KARDIOVASKULARNIM BOLESTIMA

Povezanost razine fibrinogena s rizikom za razvoj kardiovaskularnih bolesti potvrđena je brojnim epidemiološkim studijama, međutim nejasna je jačina, stupanj te uzročne veze. Pripisivanje fibrinogenu uloge čimbenika rizika ometano je brojnim faktorima zabune, ponajprije prouzrokovanih upalnim odgovorom koji je prisutan u kardiovaskularnim bolestima i rezultira povišenom razinom fibrinogena. (Lowe GD et al. 2001) S obzirom da kardiovaskularne bolesti imaju upalnu komponentu, razina fibrinogena prije bi bila marker, a ne jedan od rizičnih čimbenika. Primjerice, u jednoj od studija, jakost uzročne povezanosti fibrinogena s ishemijskom bolesti srca umanjena je kada su rezultati stratificirani za interleukin-6 i CRP (čimbenici zabune), a rezultati jedne od MONICA studija također sugeriraju da je povišena razina fibrinogena posljedica djelovanja proupalnih citokina koji se vezuju s drugim kardiovaskularnim čimbenicima rizika (Welsh P et al. 2008). U suprotnosti s prethodno navedenim,

povišene razine fibrinogena, u jednoj od studija, povezane su s rizikom za vensku trombozu i nakon korekcije rezultata, uzimajući u obzir CRP (čimbenik zabune), što ukazuje da povišena razina fibrinogena nije uvijek posljedica odgovora akutne faze (Fish RJ et Neerman-Arbez M 2012). Nadalje, nekoliko činjenica sugerira uzročno-posljedične učinke povišene razina fibrinogena na razvoj kardiovaskularnih bolesti. To uključuje; ubrzano formiranje i promijenjene karakteristike ugruška, povećanu viskoznosti krvi i otpornost na fibrinolizu. Nedavno je istraživanje na mišjim modelima pokazalo da hiperfibrinogenemija skraćuje vrijeme formiranja ugrušaka, koji su pritom otporni na fibrinolizu. (Machlus KR et al. 2011) U daljnjem tekstu prikazat će se uloga fibrinogena u glavnim kliničkim manifestacijama bolesti srca i krvožilnog sustava.

6.1. KLINIČKA IMPLIKACIJA FIBRINOGENA

Koncentracija fibrinogena u plazmi, u nekim studijama, pozitivno korelira s težinom ishemijske bolesti srca. Razina fibrinogena viša je u bolesnika s nestabilnom u odnosu na one sa stabilnom anginom, također je viša u pacijenata s teškom vazospastičnom nego u onih s blagom vazospastičnom ili stabilnom anginom. (Kaptoge S et al. 2013)

Nadalje, povišene razine fibrinogena u plazmi imaju prognostičke implikacije, snažan je prediktor koronarne bolesti srca, fatalne ili ne-fatalne i smrti zbog neutvrđenog uzroka, za muškarce i žene, prema tome, fibrinogen je prediktor ubrzane koronarne ateroskleroze. Lijekovi koji snižavaju razinu fibrinogena u plazmi (kao što su neki fibrati, statini, tiklopidin) smanjuju i kardiovaskularni rizik, naravno, taj učinak na smanjenje rizika objašnjava se i drugim mehanizmima, kao što je smanjenje lipida i inhibicija agregacije trombocita. Selektivno smanjenje fibrinogena u plazmi, enzimima koji ga razgrađuju (ancrod, batroxobin), smanjuju rizik postoperativne tromboembolije, no utjecaj na akutni moždani udar je nejasan, a osim toga povećavaju rizik od krvarenja. (Hennerici MG et al. 2006) Fibrinogen je povezan i s drugim poznatim faktorima rizika za kardiovaskularne bolesti; pušenje, dob, pretilost, hipertenzija i dijabetes. Pozitivna korelacija razine fibrinogena u plazmi i kardiovaskularnih događaja jednaka je učinku povišenog kolesterola Povišena razina fibrinogena u plazmi povećava prediktorni učinak visokog LDL-a; s druge strane, niska razina

fibrinogena povezana je s niskim koronarnim rizikom, čak i kada je LDL povišen. .(Hoffmeister A et al. 2001) Zanimljivo, razina fibrinogena povišena je i kod osoba s obiteljskom anamnezom preuranjene koronarne bolesti srca. Stoga modifikacija kardiovaskularnih čimbenika rizika može rezultirati smanjenjem razine fibrinogena u plazmi i boljim kardiovaskularni ishodom. (Woodward M et al. 2009)

6.2. FIBRINOGEN U KORONARNOJ BOLESTI SRCA

Fibrinogen i njegovi metaboliti dovode do disfunkcije endotela različitim mehanizmima. Aterosklerotske lezije sadrže velike količine fibrina u fibroznoj kapi plaka, ali i difuzno unutar čitavog plaka. Ovo je povezano i s nedovoljnom fibrinolitičkom aktivnošću i smanjenom koncentracijom plazminogena, stanjima čestim u ishemijskoj bolesti srca. Uočeno je da fibrinogen potiče proliferaciju i migraciju glatkih mišićnih i stimulira ekspresiju adhezijskih molekula na endotelnim stanicama. Raspadni produkti fibrinogena i fibrinogen potiču sintezu kolagena, kemotaksiju leukocita i makrofaga, povećavaju propusnost endotela i uzrokuju oslobađanje vazoaktivnih tvari u endotelu. Unutar aterosklerotskog plaka fibrin sudjeluje u vezanju i akumulaciji LDL-a .Osim toga, proupalni citokini, kao što je interleukin 6 (IL-6) i TNF- α stimuliraju sintezu dušikovog oksida (NO) i potiču kemotaksiju leukocita u subendotelni prostor. Ovi citokini također induciraju i sintezu proteina akutne faze u jetri, kao što je i fibrinogen, te time doprinose upalnom procesu. Dakle, fibrinogen sudjeluje u formiranju aterosklerotskih plakova što je početna faza koronarne bolesti srca. (Tousoulis D et al. 2003)

U Gothenburg studiji uočili su da fibrinogen predstavlja neovisan čimbenik rizika za srčani infarkt. Isto tako, Framinghamska studija pokazala je da se rizik za srčani infarkt

povećava progresivno s povećanjem razine fibrinogena. Učinak razine fibrinogena na kardiovaskularni rizik čak je veći u mlađih osoba i bio je sličan učinku dobro poznatih čimbenika rizika kao što je hipertenzija, šećerna bolest i pušenje. (Welsh P et al. 2008)

Još jedno veliko prospektivno istraživanje pokazalo je da fibrinogen nije samo jaki neovisan čimbenik rizika za infarkt i iznenadnu srčanu smrt u bolesnika s već postojećom koronarnom bolesti, već da ima i veliku prediktivnu vrijednost za buduće koronarne događaje u osoba bez dokazane koronarne bolesti .

Podatci iz studije EPIC-Norfolk pokazali su kako je razina fibrinogena bila značajno viša u ispitanika s koronarnom bolesti, nego u ispitanika u kojih se tokom praćenja nije razvila koronarna bolest srca, a Acevedo et al potvrdili su da je razina fibrinogena nezavisni kratkoročni prediktor smrtnog kardiovaskularnog događaja.(OR=1.81, $p<0.001$) (Rana JS et al. 2009)

Zanimljivo, povišena razina fibrinogena povezana je s nepoželjnim srčanim događajima nakon postavljanja koronarnog stenta, što ukazuje na potencijalnu prediktornu ulogu razine fibrinogena u ishodu perkutane koronarne intervencije (Robinson DM et al. 2004)

Također, uočena je uloga fibrinogena u subkliničkoj aterosklerozi. Viša razina fibrinogena u mlađih odraslih pozitivno je povezana s pojavom koronarne bolesti i povećanom debljinom intime-medije karotida u srednjoj dobi. (Green D et al. 2009) Slično tome pokazalo se da su razine fibrinogena i CRP-a u serumu značajni prediktori subkliničke ateroskleroze u postmenopauzalnih žena s hipertenzijom .(Rizzo M et al. 2009) Rezultati ovog istraživanja opravdani su ranijim saznanjima o važnoj ulozi fibrinogena u inicijaciji i daljnjoj evoluciji aterosklerotskih lezija. Nadalje, razine fibrinogena bile su značajno više u bolesnika s nestabilnom nego u onih sa stabilnom anginom, sugerirajući ulogu fibrinogena u patogenezi akutnog koronarnog sindroma.(Gil M, Zarebiński M, Adamus J. 2002)

Suprotstavljeni rezultati zabilježeni su od strane nekolicine studija koje ne pokazuju povezanost između razine fibrinogena i koronarne bolesti. Lawlor et al pokazali su da je jakost povezanosti fibrinogena i ishemijske bolesti srca manja kada se provede multivarijantna analiza kako bi se izbjegli čimbenici zabune (OR: 1.29 (1.12, 1.49) na OR: 1.09 (0.93, 1.28)).(Lawlor DA et al. 2005) Na slično je ukazala i još jedna studija

na 6002 ispitanika kada su rezultati stratificirani za LDL. Međutim, ti su rezultati iznenađujući s obzirom da ipak većina dostupnih, objavljenih studija upućuje na važnu ulogu fibrinogena u patogenezi kardiovaskularnih bolesti.

Fibrinogen predstavlja upalni marker koji sudjeluje u razvoju ishemijske bolesti srca te može upućivati na prognozu iste. Također, pridonosi razvoju akutnog koronarnog sindroma interakcijama s upalnim stanicama, endotelom i trombocitima. Velika većina studija ukazuje na pozitivnu korelaciju između razine fibrinogena i ishemijske bolesti srca, dok ostale studije ne pokazuju postojanje korelacije. Osim toga, nekoliko genskih polimorfizama lanaca fibrinogena povezani su s kardiovaskularnim događajima i razinom fibrinogena. Iako se fibrinogen široko koristi u kliničkoj praksi i epidemiološke studije su ukazale na njegovu ulogu u ishemijskoj bolesti srca, još uvijek postoje aspekti koje je potrebno dalje istraživati prospektivnim, dugoročnim studijama na velikom broju ispitanika. (Papageorgiou N et al. 2010)

6.3. FIBRINOGEN U PERIFERNOJ ARTERIJSKOJ BOLESTI

Periferna arterijska bolest (PAD) povezana je s visokim stopama cerebrovaskularnih i kardiovaskularnih događaja, PAD je "marker" sustavne ateroskleroze. Kao posljedica navedenog, standardna terapija za sve pacijente s PAD-om trebala bi biti usmjerena i na perifernu i na sustavnu aterosklerozu. Cilj terapije je smanjenje utvrđenih čimbenika rizika ; prestanak pušenja, liječenje hipertenzije, optimizacija šećerne bolesti te normalizacija lipidograma. Osim toga, novi čimbenici rizika dobivaju na svojoj važnosti, uključujući fibrinogen. Fibrinogen je marker koji upućuje na stadij PAD-a, ali i marker pomoću kojeg se može predvidjeti daljnji razvoj PAD-a. Preostaje razriješiti može li smanjenje razine fibrinogena i ostalih faktora zgrušavanja smanjiti incidenciju i napredovanje PAD-a. (Paraskevas KI et al. 2007.)

Rotterdamska studija pokazala je da su jaki i nezavisni čimbenici rizika povezani s PAD-om ; dob >75 godina, visoka razina fibrinogena u plazmi, pušenje cigareta, diabetes mellitus (DM) i povišeni sistolički krvni tlak (Meijer WT et al. 2000.) . Također, uočena je obrnuto proporcionalna povezanost HDL-a i PAD-a. Razlike s obzirom na spol nisu pronađene .

The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) studija procjenjuje odnos tradicionalnih i netradicionalnih čimbenika rizika za razvoj PAD-a. (Wattanakit K et al. 2005). Za ukupno 1651 ispitanika s šećernom bolesti (ali ne i s PAD-om) određeni su faktori rizika na početku istraživanja, a zatim tokom praćenja od 10 godina. Standardizacijom podataka za spol, dob i rasu , relativni rizik za pušače bio je 1,87 (95% interval pouzdanosti: 1,36-2,57) , za hipertrigliceridemiju bio je 1.75 (95% interval pouzdanosti: 1,18-2,60) , dok je za fibrinogen relativni rizik za najviši kvartal bio 2,52 (95% interval pouzdanosti: 1,70-3,73)

Uočeno je da osobe sa šećernom bolesti i PAD-om imaju značajno višu razinu fibrinogena u usporedbi s osobama sa šećernom bolesti ali bez PAD-a . (Bianchi C et al. 2007)

The Edinburgh Artery studija analizirala je podatke 17-godišnjeg praćenja; niz plazmatskih biomarkera ispitivani su kao mogući novi čimbenici rizika za razvoj PAD-a (Tzoulaki I et al. 2007) Od svih biomarkera, najveća povezanost s PAD-om uočena

je za fibrinogen, CRP i IL-6, koji su svi imali koeficijent korelacije veći od 0,50 ($p < 0.001$). Nakon standardizacije prema dobi i spolu, ispitanici s visokom razinom fibrinogena na početku studije imali su 30% veću vjerojatnost za razvoj PAD-a u usporedbi s osobama s normalnom razinom fibrinogena. (95%, interval pouzdanosti :1.18–1.43, $p < 0.001$).

Jedna studija je na uzorku od 100 muškaraca u dobi od 50-60 godina, bez prethodno dokazane kardiovaskularne bolesti, pomoću testa napora, pokazala da 15% ispitanika ima asimptomatsku PAD. (Baxter K et al. 1988) Ovih 15 ispitanika imalo je i povišene koncentracije fibrinogena u plazmi, u usporedbi s muškarcima bez dokazane PAD ($p < 0.01$.)

S druge strane, visoka razina fibrinogena u plazmi značajno korelira ($p < 0,01$) s razvojem restenoze kod bolesnika s PAD-om koji su podvrgnuti perkutanoj transluminalnoj angioplastici (McDermottMM et al. 2003) Značajna poveznost ($p < 0.05$) postoji između visoke razine fibrinogena u plazmi i razvoja restenoze 3 - 6 mjeseci nakon intervencije. (Tschopl M et al. 1997)

Relativni rizik za razvoj restenoze u razdoblju od 6 mjeseci, ukoliko pacijent ima visoku razinu fibrinogena prije intervencije (> 2.8 g / l) je 2.80 (95% CI: 1,30-6,02, $p < 0.01$). Pacijenti s vrijednostima fibrinogena prije PTA između 4,11 g/l i 4.63 g/l imali su 6,2 i 8,9 puta veći rizik za pojavu restenoze nakon PTA.. Zaključak je da viša razina fibrinogena prije terapijske intervencije, kao biljeg upalne aktivnosti, ukazuje na veći rizik za razvoj restenoze..

LEADER (The Lower Extremity Arterial Disease Event Reduction) studija pokazala je da su pacijenti s PAD-om koji su primali bezafibrat u dnevnoj dozi od 400mg tokom najmanje 3 godine imali značajno ($p < 0,0001$) smanjenje triglicerida i fibrinogena (za 23% i 14%) u usporedbi s placebo (Meade TW et al. 2001) Međutim, nije primijećen učinak bezafibrata na razinu CRP-a što je dovelo do zaključka da bazafibratom inducirano smanjenje fibrinogena nastaje putem utjecaja na metabolizam fibrinogena, a ne suprimiranjem upalnog odgovora

U jednoj prospektivnoj studiji ($n = 515$) tokom 20 mjeseci ispitivao se učinak statina u odnosu na placebo u pacijenata s PAD-om (Schillinger M et al. 2004) Pacijenti koji su primili terapiju statinima ($N = 269$, 52%) imali su nižu razinu upalnog odgovora koji su

mjerili razinom visoko senzitivnog hsCRP-a (HS-CRP, $p < 0.001$), serumskog amiloida A (SAA, $p = 0.001$), fibrinogena, ($p = 0.007$), albumina ($p < 0.001$) i neutrofila ($p = 0.049$). Osim toga, pacijenti koji su primali statine imali su bolje preživljenje (HR 0,52, $p = 0,022$), i nižu incidenciju velikih kardiovaskularnih ili cerebrovaskularnih događaja (HR 0,48, $p = 0,004$) u odnosu na pacijente koji nisu primili statine. Terapija statinima dovodi do većeg srednjeg preživljenja u pacijenata s teškim PAD-om i velikom upalnom aktivnosti. Međutim, u bolesnika s niskim hs-CRP (hs-CRP < 0.42 mg / dl) nije uočeno dulje preživljenje ($p = 0,74$ za preživljenje ; $p = 0,83$ za preživljenje velikih vaskularnih događaja), dok je u bolesnika s visokim HS-CRP (> 0.42 mg / dl) terapija statinima značajno je smanjila rizik za smrtni ishod (prilagođena HR 0,58, $p = 0,046$), i veliki vaskularni događaj (Prilagođena HR 0,46, $p = 0,016$).

Trenutna istraživanja upućuju na to da je razina fibrinogena u plazmi potencijalni marker progresije PAD-a. Nadalje, razina fibrinogena u plazmi (uz CRP, Lp (a), i homocistein) može biti od koristi za procjenu dugoročne prohodnosti grafta nakon intervencije (Fatourou EM et al. 2007)

Dakle, aktualni podaci snažno podupiru korištenje fibrinogena kao prediktora za budući razvoj PAD. Preostaje procijeniti može li svojevrsni screening-program identificirati visoko rizične osobe , a istovremeno biti visoko efikasan i isplativ.

6.3.1. Genska regulacija fibrinogena i utjecaj na razvoj periferne arterijske bolesti

Na genetsku predispoziciju za razvoj periferne arterijske bolesti ukazalo je nekoliko istraživanja . Osoba koja je homozigot ili heterozigot za alel A, β -lanca fibrinogena (-455G/A polimorfizam) ima povećan rizik za razvoj PAD-a ($p < .005$) neovisno o drugim čimbenici rizika (dob, spol, pušenje, fibrinogen, konzumacija alkohola, indeks tjelesne mase i šećerna bolest). Nakon standardizacije podataka prema dobi i spolu , ispitanici s -455/AA genotipom imali su gotovo dvostruko veći rizik za razvoj PAD-a u odnosu prema ispitanicima s -455/GG genotipom (OR = 1,91, 95% interval pouzdanosti: 0,90-4,04) (Lee AJ et al. 1999)

Nositelji alela A, β -lanca(-455G/A polimorfizam) također imaju i povećani rizik za lakunarni moždani udar (Martiskainen M et al. 2003)

LEADER studija ispitivala je na 853 muškarca s PAD-om kako genetske predispozicije utječu na početne vrijednosti triglicerida i fibrinogena u plazmi te kako se razine navedenih mijenjaju primjenom fibrata. (Jamshidi Y et al. 2002) Ispitivano je nekoliko polimorfizama, između ostalog i onaj β -fibrinogena (-455 G/A) te niti jedan genotip nije imao značajan utjecaj na veličinu terapijskog odgovora. Rezultati ove studije doveli su u pitanje genetsku predispoziciju za razvoj PAD.

6.4. FIBRINOGEN U CEREBROVASKULARNOJ BOLESTI

Iako je većina istraživanja usmjerena na ulogu fibrinogena u ishemijskoj bolesti srca te perifernoj arterijskoj bolesti, postoji i značajan broj studija koje ukazuju na važnost povišene razine fibrinogena i u cerebrovaskularnoj bolesti.

Povezanost razine fibrinogena u plazmi pacijenata s moždanim udarom i njihova preživljenja prikazana je u nekoliko istraživanja. Iako je teško uspoređivati rezultate istraživanja zbog metodološke nehomogenosti, sva istraživanja potvrdila su lošiju prognozu ishemijskog moždanog udara što je razina fibrinogena viša.

Ishemijski moždani udar aktivira odgovor akutne faze što rezultira povećanom koncentracijom upalnih markera. (Emsley HC et al. 2008) Ozljeda krvne žile izaziva upalni odgovor koji stimulira sintezu fibrinogena u jetri i pokreće koagulacijsku kaskadu. Visoke koncentracije fibrinogena, proteina akutne faze povezane su s moždanim udarom kao odgovor na oštećenje mozga i stijenke krvnih žila.

U Gothenburg studiji određivala se razina koagulacijskih faktora u plazmi, uključujući i fibrinogen, zajedno s krvnim tlakom, serumskim kolesterolom i drugim čimbenicima rizika, u slučajnom uzorku od 792 muškarca u dobi od 54 godine koji su praćeni 13,5 godina. Potvrđeno je da su i razina fibrinogena u plazmi i krvni tlak značajni faktori rizika za moždani udar nakon univarijantne analize. Povezanost između fibrinogena i moždanog udara ostala je značajna čak i kada su u obzir uzeti krvni tlak, serumski kolesterol i pušenje u multivarijantnoj analizi. (Di Napoli M, Papa F. 2006)

U Framinghamskoj studiji istraživana je povezanost fibrinogena i kardiovaskularnih bolesti na 1315 osoba, u dobi od 47-79 godina, koji na početku istraživanja nisu imali kardiovaskularne bolesti. Tijekom 12 godina praćenja, rizik od svih kardiovaskularnih događaja povećava se progresivno s razinom fibrinogena 1.3-7 g/l i u muškaraca i u žena. Rizik od moždanog udara povećava se progresivno s razinom fibrinogena u plazmi od 1.3 do 7g/l kod muškaraca, ali ne i u žena. Ovaj efekt vidljiv je kod muškaraca u dobi od 55-64 i 65-79 godina, ali ne i kod mlađih muškaraca. (del Zoppo GJ et al. 2009)

Razina fibrinogena u plazmi značajno se povećava unutar nekoliko sati nakon moždanog udara te u odsustvu drugih čimbenika, poput hipertenzije, postupno pada na normalnu razinu unutar sljedećih nekoliko tjedana. Kao posljedica toga, povećana razina fibrinogena u bolesnika s moždanim udarom smatrana je posljedicom reakcije akutne faze zbog nekroze moždanog tkiva. Međutim, kasnija istraživanja pokazala su da su viskoznost plazme i razina fibrinogena značajno povišene u bolesnika s prolaznim ishemijskim atakama, što sugerira da povišena razina fibrinogena može djelomično biti i uzročni čimbenik, a ne samo posljedica moždanog udara. (Shenhar-Tsarfaty S et al. 2008)

Razina fibrinogena u plazmi povezana je s veličinom ishemijskog moždanog udara u gotovo svim istraživanim populacijama. Primarni cilj uporabe biomarkera u bolesnika s moždanim udarom je identifikacija visokorizičnih pojedinaca kojima je potrebno agresivnije akutno liječenje i poboljšanje mjera sekundarne prevencije. Još uvijek nisu utvrđeni učinci smanjenja povišene koncentracije fibrinogena na prognozu moždanog udara. Trenutno ne postoji definitivni dokaz da bi snižavanje razine fibrinogena nužno poboljšalo prognozu. Međutim, mnoge mjere sekundarne intervencije povezane su sa smanjenjem razine fibrinogena. Konkretno, prehrana, vježbanje i prestanak pušenja dovode do smanjene razine fibrinogena i smanjenja vaskularnog rizika. Nekoliko lijekova koji smanjuju cerebrovaskularni rizik utječu i na razinu fibrinogena. (Di Napoli M et Singh P 2009)

U zaključku, s obzirom na trenutne dokaze, određivanje koncentracije fibrinogena vjerojatno je korisno u bolesnika s tranzitornom ishemijskom atakom ili ishemijskim moždanim udarom, ali još uvijek postoji mnogo neodgovorenih pitanja u svezi njegove uporabe, za što su potrebna daljnja sustavna istraživanja.

7. ZAKLJUČAK

Povezanost fibrinogena i aterotrombogeneze je neosporna, međutim, priroda te veze još uvijek je nejasna. Iako epidemiološke i kliničke studije ukazuju na to da je veza kauzalna, ne postoji jasan dokaz.

Fibrinogen je protein akutne faze i njegova koncentracija u plazmi raste pri upalnom odgovoru organizma što uvelike komplicira tumačenje povišene razine fibrinogena. Povišena koncentracija fibrinogena u plazmi nakon srčanog ili moždanog udara vjerojatno je odgovor akutne faze. Međutim, određivanje razine fibrinogena potencijalno bi moglo biti korisnije od drugih reaktanata akutne faze, poput CRP-a, jer je fibrinogen specifičniji za bolesti krvnih žila.

Fibrinogen ostaje značajan prediktor velikih kardiovaskularnih događaja u bolesnika kojima je utvrđena aterosklerotska bolest. Nadalje, razina fibrinogena je povišena i prije pojave akutnog moždanog ili srčanog udara u pacijenata s tranzitornim ishemijskim atakama, odnosno, stabilnom anginom pectoris. Stoga, iako je razina fibrinogena povišena kao posljedica akutnih cerebrovaskularnih i kardiovaskularnih događaja, kronično povišenje fibrinogena je mogući neovisan čimbenik rizika za navedene događaje.

Buduće smjernice zahtijevaju određivanje "kritične" gornje granične vrijednosti fibrinogena, razvoj lijekova koji će specifično, ali sigurno, bez rizika od krvarenja, smanjiti plazmatske razine fibrinogena te, naravno, provođenje daljnjih prospektivnih epidemioloških i kliničkih studija na što većem uzorku ispitanika.

8. ZAHVALE

Zahvalila bih se mentoru doc. dr.sc. Mislavu Vrsaloviću na ljubaznosti, strpljenju, pomoći i savjetima pruženim tijekom pisanja diplomskog rada kao i ostalim članovima komisije prof. dr sc. Jasenki Markeljević i doc.dr.sc. Zdravku Babiću.

Za podršku i ljubav, svoju zahvalnost dugujem najviše svojoj obitelji i Ginu.

9. LITERATURA

1. Baxter K, Wiseman S, Powell J, Greenhalgh R.(1988) Pilot study of a screening test for peripheral arterial disease in middle aged men: fibrinogen as a possible risk factor. *Cardiovasc Res* ;22:300–2.
2. Bianchi C, Penno G, Pancani F, Civitelli A, Piaggese A, Caricato F, et al.(2008) Non traditional cardiovascular risk factors contribute to peripheral arterial disease in patients with type 2 diabetes. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*;18(1):31-8
3. Cahill M, Mistry R, Barnett DB.(1992) The human platelet fibrinogen receptor: clinical and therapeutic significance. *Br J Clin Pharmacol* ; 33:3–9.
4. Carroll S, Cooke CB, Butterly RJ (2000) Plasma viscosity, fibrinogen and the metabolic syndrome: effect of obesity and cardiorespiratory fitness. *Blood Coagul Fibrinolysis* ; 11:71–8.
5. Connelly JB, Cooper JA, Meade TW (1992) Strenuous exercise, plasma fibrinogen, and factor VII activity. *Br Heart J* ; 67:351–4.
6. Cybulsky MI, Iiyama K, Li H, Zhu S, Chen M, Iiyama M et al. (2001) A major role for VCAM-1, but not ICAM-1, in early atherosclerosis. *J Clin Invest* 2001; 107:1225-62
7. Davies MJ. (2000) Coronary disease: the pathophysiology of acute coronary syndromes. *Heart*; 83:361-366.
8. de Maat MP, Pietersma A, Kofflard M, Sluiter W, Kluft C(1996) Association of plasma fibrinogen levels with coronary artery disease, smoking and inflammatory markers. *Atherosclerosis*; 121:185–9.
9. del Zoppo GJ, Levy DE, Wasiewski WW, Pancioli AM, Demchuck AM, Trammel J, Demaerschalk BM, Kaste M, Albers GW, Riegelstein EB.(2009) Hyperfibrinogenemia and functional outcome from acute ischemic stroke. *Stroke*. ;40:1687–1691
10. Di Napoli M, Papa F. (2006) Should neurologists measure fibrinogen concentrations? *J Neurol Sci*.;246:5–9.
11. Di Napoli M, Singh P (2009) Is plasma fibrinogen useful in evaluating ischemic stroke patients? :why, how and when. *Stroke*; 40(5):1549-52.

12. Ditschuneit HH, Flechtner-Mors M, Adler G (1995) Fibrinogen in obesity before and after weight reduction. *Obes Res* ; 3:43–8.
13. Doolittle RF, Spraggon G, Everse SJ.(1998) Three-dimensional structural studies on fragments of fibrinogen and fibrin. *Curr Opin Struct Biol*; 8:792–8.
14. Emsley HC, Smith CJ, Tyrrell PJ, Hopkins SJ.(2008) Inflammation in acute ischemic stroke and its relevance to stroke critical care. *Neurocrit Care.*; 9:125–138.
15. Fabunmi RP et al.(1997) Regulation of matrix metalloproteinase expression in human vascular smooth muscle cells by T lymphocytes: a role for CD40 signaling in plaque rupture? *Circ Res*; 81:448-454
16. Fatourou EM, Paraskevas KI, Seifalian AM, Hamilton G, Mikhailidis DP. (2007) The role of established and emerging risk factors in peripheral vascular graft occlusion. *Expert Opin Pharmacother* ;8:901–11.
17. Fellowes AP, Brennan SO, George PM (2001) Identification and characterization of five new fibrinogen gene polymorphisms. *Ann N Y Acad Sci* ; 936:536–41.
18. Fish RJ, Neerman-Arbez M (2012) Fibrinogen gene regulation. *Thromb Haemost*; 108 (3):419-26.
19. Gardiner EE, D'Souza SE. (1997) A mitogenic action for fibrinogen mediated through intercellular adhesion molecule-1. *J Biol Chem* ; 272:15474–80.
20. Gibbs CR, Blann AD, Edmunds E, Watson RDS, Lip GYH (2001) Effects of acute exercise on hemorrheological, endothelial and platelet markers in patients with chronic heart failure in sinus rhythm. *Clin Card* ; 24:724–9.
21. Gil M, Zarebiński M, Adamus J.(2002) Plasma fibrinogen and troponin I in acute coronary syndrome and stable angina. *Int J Cardiol.* ; 83: 43-46.
22. Green D, Chan C, Kang J, et al. (2010) Longitudinal assessment of fibrinogen in relation to subclinical cardiovascular disease: the CARDIA Study. *J Thromb Haemost.*; 8(3):489-95.
23. Hansson GK (2005) Inflammation atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med*;352:1685-95
24. Hansson GK , Nilsson J (2009) Pathogenesis of Atherosclerosis. U: Crawford MH (ur.) DiMarco JP, Paulus WJ Cardiology. Elsevier Health Science. Str. 3-15.

25. Harley SL, Sturge J, Powell JT. (2000) Regulation by fibrinogen and its products of intercellular adhesion molecule-1 expression in human saphenous vein endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* ; 20:652–8.
26. Hennerici MG, Kay R, Bogousslavsky J, et al. (2006) Intravenous ancreod for acute ischaemic stroke in the European Stroke Treatment with Ancrod Trial: a randomised controlled trial. *Lancet* ; 368: 1871–1878.
27. Herrick S, Blanc-Brude O, Gray A, Laurent G. (1999) Fibrinogen. *Int J Biochem Cell Biol* ; 31:741–6.
28. Hoffmeister A, Rothenbacher D, Bazner U, Frohlich M, Brenner H, Hombach V, Koenig W. (2001) Role of novel markers of inflammation in patients with stable coronary heart disease. *Am J Cardiol*; 87:262–6.
29. Hu WJ, Eaton JW, Ugarova TP, Tang L. (2001) Molecular basis of biomaterial-mediated foreign body reactions. *Blood*; 98:1231–8.
30. Ishikawa S, Kario K, Nago N, et al. (1997) Factor VII and fibrinogen levels examined by age, sex, and other atherosclerotic risk factors in a Japanese population. The Jichi Medical School Cohort Study. *Thromb Haemost* ; 77:890–3.
31. Jamshidi Y, Flavell DM, Hawe E, MacCallum PK, Meade TW, Humphries SE. (2002) Genetic determinants of the response to bezafibrate treatment in the lower extremity arterial disease event reduction (LEADER) trial. *Atherosclerosis* ; 163:183–92.
32. Javno zdravlje [Internet]. Hrvatski zavod za javno zdravstvo; 2014. Kralj V. Kardiovaskularne bolesti; 29.7.2014. [ažurirano 29.5.2015.; pristupljeno 10.5.2015.]. Dostupno na : <http://javno-zdravlje.hr/kardiovaskularne-bolesti-2/>
33. Kamath S, Lip GY (2003) Fibrinogen: biochemistry, epidemiology and determinants. *QJM*; 96(10) :711-29.
34. Kaptoge S, Seshasai SR, Gao P, et al. (2013) Inflammatory cytokines and risk of coronary heart disease: new prospective study and updated meta-analyses. *Eur Heart J* ;35(9):578-579
35. Lawlor DA, Smith GD, Rumley A, Lowe GDO, Ebrahim S. (2005) Associations of fibrinogen and C-reactive protein with prevalent and incident coronary heart disease are attenuated by adjustment for confounding factors. British Women's Heart and Health Study. *Thromb Haemost.*; 93: 955-963.

36. Lee AJ, Fowkes FG, Lowe GD, Connor JM, Rumley A.(1999) Fibrinogen, factor VII and PAI-1 genotypes and the risk of coronary and peripheral atherosclerosis: Edinburgh Artery Study. *Thromb Haemost* ;81:553–60.
37. Libby P, Ridker PM, Maser A. (2002) Inflammation and atherosclerosis. *Circulation*;105;1135-43
38. Li-Saw-Hee FL, Blann AD, Edmunds E, Gibbs CR, Lip GYH (2001) Effect of acute exercise on the raised Plasma fibrinogen, soluble P-selectin and vWF levels in Chronic Atrial Fibrillation. *Clin Cardiol* ; 24:409–14.
39. Lowe GD, Rumley A.(2001) Fibrinogen and its degradation products as thrombotic risk factors. *Ann NY Acad Sci* ; 936: 560–565.
40. Mach F, Sauty A, Iarossi A, Sukhova GK, Neote K, Libby P al. (1999) Differential expression of three T lymphocyte-activating CXC chemokines by human atheroma-associated cells. *J Clin Invest* ; 104:1041-50
41. Machlus KR, Cardenas JC, Church FC, et al.(2011) Causal relationship between hyperfibrinogenemia, thrombosis, and resistance to thrombolysis in mice. *Blood* ; 117: 4953–4963.
42. Martiskainen M, Pohjasvaara T, Mikkelsen J, Mantyla R, Kunnas T, Laippala P, et al.(2003) Fibrinogen gene promoter -455 A allele as a risk factor for lacunar stroke. *Stroke* ;34: 886–91.
43. McCarty MF(1999) Interleukin-6 as a central mediator of cardiovascular risk associated with chronic inflammation, smoking, diabetes, and visceral obesity: down-regulation with essential fatty acids, ethanol and pentoxifylline. *Med Hypotheses* ; 52:465–77.
44. McDermottMM,Greenland P,Green D,Guralnik JM, CriquiMH, Liu K, et al.(2003) D-dimer, inflammatory markers, and lower extremity functioning in patients with and without peripheral arterial disease. *Circulation* ;107:3191–8.
45. Meade TW. (2001) For the British Medical Research Council General Practice Research Framework and participating vascular clinics. Design and intermediate results of the Lower Extremity Arterial Disease Event Reduction (LEADER)* trial of bezafibrate in men with lower extremity arterial disease[ISRCTN4119421]. *Curr Control Trials Cardiovasc Med* ;2:195–204.

46. Meijer WT, Grobbee DE, Hunink MG, Hofman A, Hoes AW. (2000) Determinants of peripheral arterial disease in the elderly: the Rotterdam study. *Arch Intern Med* ;160:2934–8.
47. Mendall MA, Patel P, Ballam L, Strachan D, Northfield TC(1996) C reactive protein and its relation to cardiovascular risk factors: a population based cross sectional study. *Br Med J* ; 312:1061–5.
48. Mennen LI, Balkau B, Vol S, Caces E, Eschwege E.(1999) Fibrinogen: a possible link between alcohol consumption and cardiovascular disease? DESIR Study Group. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* ; 19:887–92.
49. Naito M, Funaki C, Hayashi T, Yamada K, Asai K, Yoshimine N, Kuzuya F.(1992) Substrate-bound fibrinogen, fibrin and other cell attachment-promoting proteins as a scaffold for cultured vascular smooth muscle cells. *Atherosclerosis* ; 96:227–34.
50. Papageorgiou N, Tousoulis D, Siasos G, Stefanadis C (2010) Is Fibrinogen a Marker of Inflammation in Coronary Artery Disease? *Hellenic J Cardiol* ; 51: 1-9
51. Paraskevas KI, Baker DM, Vrentzos GE, Mikhailidis DP (2008) The role of fibrinogen and fibrinolysis in peripheral arterial disease. *Thromb Res*, 122(1):1-12
52. Prisco D, Fedi S, Brunelli T, et al. (1996) Fibrinogen and factor VIIag in healthy adolescents: the Floren-teen (Florence teenager) Study. *Thromb Haemost* ; 75:778–81.
53. Qiao JH, Tripathi J, Mishra NK, Cai Y, Triptahi S, Wang XP, et al. (1997) Role of macrophage colony-stimulating factor in atherosclerosis: studies of osteopetrotic mice. *Am J Pathol* ; 150:1687-99
54. Rana JS, Cote M, Després J-P, et al. (2009) Inflammatory biomarkers and the prediction of coronary events among people at intermediate risk: the EPIC-Norfolk prospective population study. *Heart.* ; 95: 1682-1687.
55. Rizzo M, Corrado E, Coppola G, Muratori I, Novo G, Novo S.(2009) Markers of inflammation are strong predictors of subclinical and clinical atherosclerosis in women with hypertension. *Coron Artery Dis.* ; 20: 15-20.

56. Robinson DM, Schwahn C, Alte D, John U, Felix SB, Völzke H. (2004) Plasma fibrinogen levels are associated with a strong family history of myocardial infarction. *Blood Coagul Fibrinolysis*. ; 15: 497-502.
57. Ross R. (1999) Mechanisms of disease: atherosclerosis, an inflammatory disease (review article). *N Engl J Med* ; 340:115-26.
58. Rubel C, Fernandez GC, Dran G, Bompadre MB, Isturiz MA, Palermo MS.(2001) Fibrinogen promotes neutrophil activation and delays apoptosis. *J Immunol* ; 166:2002–10.
59. Schillinger M, Exner M, Mlekusch W, Amighi J, Sabeti S, Muellner M, et al. (2004) Statin therapy improves cardiovascular outcome of patients with peripheral artery disease. *Eur Heart J* ;25:742–8.
60. Schneider DJ, Taatjes DJ, Howard DB, Sobel BE.(1999) Increased reactivity of platelets induced by fibrinogen independent of its binding to the IIb-IIIa surface glycoprotein: a potential contributor to cardiovascular risk. *J Am Coll Cardiol* ; 33:261–6.
61. Schuit AJ, Schouten EG, Kluft C, de Maat M, Menheere PP, Kok FJ (1997) Effect of strenuous exercise on fibrinogen and fibrinolysis in healthy elderly men and women. *Thromb Haemost* ; 78:845–51.
62. Shenhar-Tsarfaty S, Ben Assayag E, Bova I, Shopin L, Cohen M, Berliner S, Shapira I, Bornstein NM.(2008) Persistent hyperfibrinogenemia in acute ischemic stroke/transient ischemic attack (TIA). *Thromb Haemost.*; 99:169 – 173.
63. Tousoulis D, Davies G, Stefanadis C, Toutouzas P, Ambrose JA. (2003) Inflammatory and thrombotic mechanisms in coronary atherosclerosis. *Heart*.; 89: 993-997.
64. Tschopl M, Tsakiris DA, Marbet GA, Labs KH, Jager K. (1997) Role of hemostatic risk factors for restenosis in peripheral arterial occlusive disease after transluminal angioplasty. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* ;17:3208–14.
65. Tzoulaki I, Murray GD, Lee AJ, Rumley A, Lowe GD, Fowkes FG. (2007) Inflammatory, haemostatic, and rheological markers for incident peripheral arterial disease: Edinburgh Artery Study. *Eur Heart J*;28:354–62.
66. Wang Z, Barker TH, Fuller GM (1999) Alcohol at moderate levels decreases fibrinogen expression in vivo and in vitro. *Alcohol Clin Exp Res* ; 23:1927–3.

67. Waters D.D. (2009) Risk Factors for Cardiovascular Disease U: Crawford MH (ur.) DiMarco JP, Paulus WJ Cardiology. Elsevier Health Science. Str. 27-35
68. Wattanakit K, Folsom AR, Selvin E, Weatherley BD, Pankow JS, Brancati FL, et al. (2005) Risk factors for peripheral arterial disease incidence in persons with diabetes: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Atherosclerosis*;180:389-97.
69. Welsh P, Woodward M, Rumley A, et al. (2008) Associations of plasma pro-inflammatory cytokines, fibrinogen, viscosity and C-reactive protein with cardiovascular risk factors and social deprivation: the fourth Glasgow MONICA study. *Br J Haematol* ; 141: 852–861.
70. Woodward M, Tunstall-Pedoe H, Rumley A, et al. (2009) Does fibrinogen add to prediction of cardiovascular disease? Results from the Scottish Heart Heart Extended Cohort Study. *Br J Haematol*; 146: 442–446

10. ŽIVOTOPIS

Ime i Prezime: Lucija Kudumija

Datum rođenja: 19.9.1991.

Mjesto rođenja: Bjelovar

OBRAZOVANJE:

2010.-2016. Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

2006.-2010. Prirodoslovno – matematička gimnazija u Bjelovaru

2005.-2009. Srednja glazbena škola Vatroslava Lisinskog u Bjelovaru

1998.-2006. Druga osnovna škola u Bjelovaru

SVEUČILIŠNE AKTIVNOSTI:

2011.-2012. Demonstrator na Katedri za anatomiju

2014.- 2016. Demonstrator na Kliničkoj propedeutici (Klinika za bolesti srca i krvnih žila, KBC Sestre milosrdnice)

STRANI JEZICI:

Aktivno napredno služenje engleskim i njemačkim jezikom.